

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه آزاد اسلامی

واحد اهر

دانشکده‌ی علوم پایه گروه زیست‌شناسی

پایان نامه برای دریافت درجه‌ی کارشناسی ارشد رشته زیست‌شناسی سلولی و مولکولی
گرایش: ژنتیک (M.Sc)

عنوان:

**در بیماران مبتلا به hTERT در ژن A 16MNS بررسی پلی مورفیسم
سرطان پستان اولیه در استان اردبیل**

استاد راهنما:

دکتر سید سعید حسینی اصل

استاد مشاور:

دکتر سید علی رحمانی

نگارش:

شقایق شفیقی

زمستان 1392

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
چکیده.....	1
فصل اول: کلیات	
- : سرطان پستان.....	7
2-1: تاریخچه سرطان پستان.....	7
3-1: اپیدمیولوژی سرطان پستان.....	9
4-1: مورفولوژی سرطان پستان.....	11
1-4-1 طبقه بندی بر اساس پاتولوژی.....	11
2-4-1 طبقه بندی با توجه به درجه.....	11
3-4-1 طبقه بندی بر اساس مرحله سرطان.....	12
4-4-1 طبقه بندی با ظاهر بافت شناسی.....	12
1-4-4-1 کارسینوم مجرای درجا (in situ).....	12
1-1-4-4-1 کارسینوم درجای مجاری شیری (DCIS).....	12
2-1-4-4-1 کارسینوم درجای لوبولار (LCIS).....	14
2-4-4-1 کارسینوم مجرای مهاجم (IDC).....	15
1-2-4-4-1 کارسینوم مدولاری.....	17
2-2-4-4-1 نفوذ یافته به سرطان لوبولار (ILC).....	17

18 3-2- 4-4-1 کارسینوم توبولار
18 4-2- 4-4-1 سرطان موسینی و یا کلوئیدی
19 3- 4-4-1 بیماری پاژه
19 4- 4-4-1 سرطان پستان التهابی (IBC)
19 5- 4-4-1 سرطان پستان نگاتیو سه تایی
20 6- 4-4-1 سرطان پستان متاستاتیک
20 5-1 مرحله بندی سرطان پستان
21 1-5-1 علائمی که ممکن است در سرطان پستان ظاهر شوند
22 6-1 فاکتورهای خطر
29 7-1 عوامل محافظ کننده
29 8-1 روش های درمان سرطان پستان
36 9-1 تلومر
40 1-9-1 کاردکرد و ویژگی های تلومر
42 10-1 آنزیم تلومراز
46 hTR1-10-1
47 hTERT2-10-1
52 11-1 تلومراز و سرطان
55 MNS16A 12-1

13-1:فرضیه تحقیق.....58

14-1 اهداف تحقیق.....58

فصل دوم:مبانی نظری و پیشینه تحقیق

1-2 پیشینه تحقیق.....61

فصل سوم:مواد و روش ها

1-3 جامعه آماری،حجم نمونه.....71

1-1-3 جامعه آماری.....71

2-1-3 حجم نمونه.....71

2-3- مواد لازم.....71

1-2-3 مواد لازم برای استخراج DNA از بافت پارافین.....71

2-2-3 مواد لازم برای انجام Polymerase Chain Reaction (PCR)71

3-2-3- مواد لازم جهت تهیه ژل الکتروفورز آگاروز.....72

3-3- وسایل مورد نیاز.....72

1-3-3 وسایل مورد نیاز جهت نگهداری نمونه ها.....73

2-3-3- وسایل لازم جهت استخراج دستی DNA.....73

3-3-3- وسایل لازم جهت تهیه ژل الکتروفورز آگاروز.....73

4-3- دستگاه های مورد استفاده.....74

75.....	3-5- روش کار.....
75.....	3-5-1- جمع آوری نمونه.....
76.....	3-5-2- استخراج دستی DNA از نمونه ی بلوک پارافین بیماران.....
79.....	3-5-3- ارزیابی خلوص و کیفیت DNA استخراج شده.....
80.....	3-5-4- واکنش زنجیره ای پلیمراز (polymerase chain reaction).....
82.....	3-5-5- الکتروفورز محصول PCR بر روی ژل آگاروز.....

فصل چهارم: نتایج

85.....	4-1 نتایج PCR.....
---------	--------------------

فصل پنجم:

93.....	بحث و نتیجه گیری.....
98.....	منابع.....

عنوان	صفحه
جدول 1-1- فاکتورهای خطر در سرطان پستان.....	22
جدول 1-2- پروتئین های تلومر و تلومراز انسان.....	52
جدول 1-3- روش های ضد سرطان مبتنی بر مهار تلومراز.....	55
جدول 3--1- توالی پرایمرها.....	75
جدول 3-2- شرایط دمایی جهت تکثیر A16MNS در ژن hTERT.....	75
جدول 5-1: میانگین سنی برای افراد سالم و بیمار.....	87
جدول 5-2: توزیع ژنوتیپی برای افراد سالم و بیماران.....	87
جدول 5-3: توزیع پاتولوژی تومورها.....	89
جدول 5-4: توزیع درجه بندی تومورها.....	89
جدول 5-5: توزیع پستان های در گیر تومور.....	90
جدول 5-6: ارتباط میان ژنوتیپ های A16MNS ژن hTERT با درجه تومور.....	90
جدول 5-7: ارتباط میان ژنوتیپ های A16MNS ژن hTERT با متاستاز (ALN).....	91
جدول 5-8: ارتباط میان ژنوتیپ های A16MNS ژن hTERT با نوع کارسینوما.....	91
جدول 5-9: ارتباط میان ژنوتیپ های A16MNS ژن hTERT با سن بیماران.....	92

فهرست شکل ها

عنوان	صفحه
شکل 1-1 ده نوع از موارد جدید تخمین زده شده سرطان در امریکا در سال 2012.....	11
شکل 2-1: کارسینوم درجای لوبولار (LCIS).....	16
شکل 3-1: کارسینوم مجرای مهاجم (IDC).....	17
شکل 4-1: ژن BCR-ABL باعث تغییر شکل پروتئین ها می شود.....	34
شکل 5-1: 3 پروتئین متصل به DNA به نامهای 1,POT2,TRF1TRF.....	38
شکل 6-1: ساختار تلومراز.....	45
شکل 7-1: چرخه واکنش تلومراز.....	48
شکل 8-1: ساختار دمین hTERT.....	51
شکل 9-1: ساختار پروموتور اصلی شروع رونوشت آنتی سنس و جایگاه MNS16 A... ..	57
شکل 10-1: توالی VNTR های MNS16 A ژن hTERT.....	58
شکل 5-1: نتیجه حاصل از PCR بر روی ژل الکتروفورز.....	81

چکیده

زمینه و هدف: سرطان پستان شایع ترین بدخیمی در میان زنان بوده و تقریباً از هر 8 زن در دنیا یک نفر در طول عمر به آن مبتلا می شود. مشاهدات اخیر از این مفهوم حمایت میکند که بیان تلومراز برای تشکیل سلول های تومور انسانی ضروری است. در سال 2003 یک مورد پلیمورفسم مینی ستلایت پشت سر هم تکراری در ژن hTERT، به نام MNS16A گزارش شده است که در بیان hTERT تاثیر گذار است و فعالیت پروموتور آن وابسته به تعداد توالی های پشت سر هم تکراری است که حاکی از دخالت ژنوتیپ A MNS16 دارد. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط پلیمورفسم این مینی ستلایت با خطر ابتلا به سرطان پستان در استان اردبیل می باشد.

مواد و روش ها: به منظور انجام این تحقیق نمونه DNA 53 بیمار زن مبتلا به سرطان پستان و 51 زن سالم مراجعه کننده به بیمارستان امام خمینی (ره) استان اردبیل استخراج و پلیمورفسم MNS16A در ژن hTERT توسط تکنیک واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) مورد آنالیز و اطلاعات بدست آمده با استفاده از نرم افزار (SPSS)، مورد تحلیل آماری قرار گرفت.

نتایج: به دلیل ناپارامتری بودن داده ها از آزمون من ویتنی برای مقایسه توزیع فراوانی سه ژنوتیپ مختلف MNS16A در ژن hTERT استفاده شد. فراوانی LL، SL، SS و LL پلیمورفسم در گروه بیماران برابر با 56/60، 18/86 و 24/52 درصد و در گروه کنترل برابر با 50/98، 24/49 و 21/56 درصد بود. پراکنش ژنوتیپ ها و میزان شیوع الل ها در گروه بیماران و گروه کنترل نشان داد که اختلاف آماری معنی داری بین دو گروه وجود ندارد. ($P > 0.05$).

نتیجه گیری: نتایج مطالعه نشان داد که پلی مورفسم MNS16A در ژن hTERT فاکتور مستعد کننده ای برای ابتلا به سرطان پستان در استان اردبیل نمی باشد.

واژگان کلیدی: سرطان پستان، MNS16A، hTERT، پلیمورفسم

فصل اول

کلیات

1-1 سرطان پستان¹

سرطان پستان شایع ترین بدخیمی در میان زنان بوده و تقریباً از هر 8 زن در دنیا یک نفر در طول عمر به آن مبتلا می شود. مطالعات نشان می دهد که 30%-15 از زنانی که به سرطان پستان مبتلا می شوند دارای تاریخچه ی خانوادگی ابتلا به سرطان پستان و یا سرطان تخمدان هستند. بررسی های انجام یافته در ارتباط با تاثیر عوامل مختلف ژنتیکی و غیرژنتیکی و نیز مطالعات خانوادگی پیرامون شروع زودهنگام، نشان داده است که سرطان پستان به عنوان یک صفت غالب عمل می کند که این استعداد ژنتیکی ناشی از germline mutations غیرفعال کننده در ژنهای سرکوبگر تومور و ژنهای ترمیم کننده ی DNA می باشد که منجر به افزایش میزان موتاسیون در انکوژن ها و Checkpoint های سیکل سلولی و در نتیجه منجر به تقسیم کنترل نشده ی سلولها می گردد(57).

1- تاریخچه سرطان پستان

سرطان پستان از دوران باستان در انسان تشخیص داده شد و در برخی مکتوبات تاریخی به آن اشاره شده است و بنظر می رسد از نظر تاریخی سرطان پستان برای نخستین بار در مصر باستان مشاهده و درمان شده باشد. شاید به طور دقیق و مستند نتوان گفت نخستین مورد ابتلا و تشخیص بیماری سرطان پستان در چه شخصی و در کجا بوده اما با این حال اطلاع از سرطان پستان و اشاره به آن به عنوان یک بیماری، به سال 1600 پیش از میلاد و در دست نوشته های مصریان باستان باز می گردد(41).